DOI:10.11931/guihaia.gxzw201809042

辽东栎种子的顽拗性：脱水和低温敏感性

程继铭，闫兴富*

(国家民委生态系统模型及应用重点实验室 北方民族大学生物科学与工程学院，银川 750021)

摘要：采用硅胶(快速脱水)和 35 ℃电子恒温干燥箱中脱水(缓慢脱水)及冷藏(4 ℃)和冻藏(-4 ℃)的方法，研究了辽东栎种子的脱水和低温敏感性及其对种子萌发的影响。结果表明：辽东栎种子成熟散落时具有较高的含水量(96.0%)和萌发率(78.9%)，不论是快速脱水还是缓慢脱水，萌发率、萌发速率、萌发指数和活力指数均随着脱水时间的延长和含水量的降低呈减小趋势，至脱水 96 h 后(快速和缓慢脱水种子含水量分别为 66.0%和 69.8%)，种子全部失去活力；辽东栎种子活力与含水量呈显著的正相关关系，但轻度脱水可促进种子萌发；快速脱水种子比缓慢脱水种子具有更高的脱水耐性。辽东栎种子不能耐受低温贮藏，萌发率、萌发速率、萌发指数和活力指数在 4 ℃下冷藏 30 d 或-4 ℃下冻藏 6 h 后均显著降低；冷藏 90 d 或冻藏 48 h 后种子全部丧失活力。

关键词 ：辽东栎，脱水耐性，低温贮藏，种子活力

中图分类号：Q948.1　**文献标识码：**A

Recalcitrance of *Quercus wutaishanica* seeds: the sensitivity to desiccation and low temperature

CHENG Jiming, YAN Xingfu*

(*Key Laboratory of Ecosystem Model and Applications of State Nationalities Affairs Commission, College of Biological Science and Engineering, Beifang Minzu University*, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Experiments of desiccation treated by silica gel and electric constant temperature drying oven and cold (4 ℃) and frozen storage (-4 ℃) were conducted to investigate the sensitivity of *Quercus wutaishanica* seeds to desiccation and low temperature and their effects on

基金项目：国家自然科学基金(31660195)；宁夏回族自治区重点研发计划重点项目(2018BEG02001) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31660195); the Key Project of Key Research and Development Program of Ningxia Hui Autonomous Region, China (2018BEG02001)]。

作者简介：程继铭(1993—)，男，四川巴中人，硕士，主要从事植物生态学研究，(E-mail) 863350091@qq.com。

***通信作者：**闫兴富，博士，教授，主要从事植物生态学研究，(E-mail) xxffyan@126.com。

the seed germination. The results showed that high moisture content (96.0%) and germination percentage (78.9%) of *Q. wutaishanica* seeds at shedding period. The germination percentage (GP), germination rate (GR), germination index (GI) and vigor index (VI) of seeds desiccated both rapidly and slowly all exhibited trends of decline, with the prolonging of desiccation time and the decreasing of seed moisture content. Desiccation treatment of 96 h (the moisture content of seeds desiccated rapidly and slowly was 66.0% and 69.8% respectively) led to entire loss of seed viability. A significantly positive relationship was detected between the seed viability and moisture content of *Q. wutaishanica* seeds, while slight desiccation facilitated the seed germination. Seeds desiccated rapidly had higher tolerance to drying compared with seeds desiccated slowly. Seeds of *Q. wutaishanica* could not to tolerate low temperature storage and the GPs, GRs, GIs and VIs all markedly declined after being cold stored at 4 ℃ for 30 d or frozen stored at -4 ℃ for 6 h. Cold storage at 4 ℃ for 90 d or frozen stored at -4 ℃ for 48 h resulted in that all seeds lost their viabilities.

Key words: *Quercus wutaishanica*, desiccation tolerance, low temperature storage, seed viability

根据种子贮藏行为的差异，可将种子分为正常性种子(orthodox seed)和顽拗性种子(recalcitrant seed) 2种类型(Roberts, 1973)，前者在发育过程中经历一个明显的脱水阶段，因而可在较低含水量条件下长期保存，而后者在发育期间不经历成熟脱水过程，散落时仍保持较高的含水量和代谢活性，因而对脱水反应敏感(Berjak et al, 2004; Ntuli et al, 2014)。顽拗性种子在同一植物内和不同植物间具有高度、中度和轻度顽拗性之分(文彬，2008; Jayasuriya et al, 2012)，对于同一种子批而言，脱水速度不同，其脱水耐性也有差异。一般认为快速脱水比缓慢脱水更有利于种子在较低含水量条件下存活(Wesley-Smith et al, 2001)，即种子在脱水至含水量相同的条件下，快速脱水的种子活力更高，因为快速脱水可缩短种子脱水胁迫的时间，从而降低代谢胁迫的积累(Walters et al, 2001; Berjak et al, 2004)；相反，缓慢脱水延长了水分在种子内保持的时间而加剧引起种子伤害的劣变(Waters et al, 2001)。例如，木菠萝(*Artocarpus heterophyllus*)种子的胚轴脱水至含水量约0.37 $g \cdot g^{-1}$时，慢速脱水和快速脱水种子的存活率分别为0和100% (Wesley-Smith et al, 2001)，顽拗性的假槟榔(*Archontophoenix alexandrae*)种子也有类似的脱水反应(邵玉涛等, 2006)。在顽拗性种子生物学研究中，通常用种子含水量是作为评价种子脱水耐性的指标(李磊等, 2014)，顽拗性种子存在一个含水量临

界值，当种子脱水至这一含水量临界值以下时，活力会迅速降低(Pammenter & Berjak, 2000; 何惠英和宋松泉, 2003)。

顽拗性种子不仅对脱水反应敏感，而且因其成熟时具有较高含水量而对通常的低温贮藏条件反应敏感(Li & Pritchard, 2009; Walters et al, 2013)，即在适合正常性种子贮藏的条件下，顽拗性种子的贮藏寿命一般很短(文彬，2008; Berjak & Pammenter, 2013)，因为其在种子发育和萌发阶段之间没有明显的界限，在种子贮藏期间必须保持其活力，导致其适宜贮藏的时间大大缩短，且在贮藏期间容易自动萌发(辛霞等, 2007; 闫兴富等, 2011)。尽管温带地区的顽拗型种子不能耐受脱水，但其可耐受较低的温度条件(文彬，2008)，例如，栓皮栎(*Quercus variabilis*)种子的发芽率在5 ℃下半密闭贮藏100 d无显著降低，但在贮藏期间自动萌发现象较为普遍(辛霞等，2007)。因此，探索此类种子的低温贮藏技术仍是生产实践中面临的一项重要任务，尤其是温带地区栎属植物的种子，秋季成熟散落而春季萌发的适应性意味着其在漫长的冬季可能会随时面临低温引起的死亡风险。

辽东栎(*Quercus wutaishanica*)是我国暖温带落叶阔叶顶极群落的重要优势树种之一，对暖温带落叶阔叶林的外貌、结构、动态和种类组成都具有重要影响。基于种子繁殖的实生更新在维持辽东栎遗传多样性和群落稳定性具有重要作用，但该种子没有休眠期，种子成熟散落后可迅速萌发建立幼苗。种子顽拗性可能在栎属植物中普遍存在(Dickie & Pritchard, 2002; Xia et al, 2012)，闫兴富等(2011)通过沙埋和风干贮藏的方法证明了辽东栎种子的轻度顽拗性，但有关其种子脱水和低温耐性方面仍缺乏系统的研究。本研究以取自六盘山区的辽东栎种子为材料，研究了不同脱水(缓慢脱水和快速脱水)和低温短期贮藏对种子萌发的影响，研究结果不仅可丰富和完善顽拗性种子生态学理论，而且可为探索辽东栎种子的长期贮藏方法及种苗繁育等林业生产实际提供参考。

1 材料与方法

1.1 种子的采集

试验用辽东栎种子于 2016 年 9 月 20 日采自六盘山国家自然保护区(106.9 °—106.30 °E，35.15 °—35.41 °N)龙潭林场的辽东栎植株林冠下，于采集次日将种子带回实验室，挑选无虫蛀、且大小基本一致的种子备用，种子鲜重为(3.05 ±0.38) g (*n*=100)。

1.2 种子脱水和含水量测定

快速脱水(硅胶处理)：取大小为 20 cm×15 cm 的自封袋 27 个，先在袋内装入变色硅胶，取上述挑选好的种子 40 个(种子与硅胶的质量比约 1/10)，手工剥皮后装入自封袋，单层摆

放种子以保证与硅胶充分接触，再将自封袋置于室温约 25 ℃实验室内的干燥器中；分别脱水 1、2、4、8、12、24、48、72、96 h 后，各取出 3 袋种子作为 3 次重复进行种子含水量(moisture content)和活力测定；取每一袋内的 6 枚种子用于测定含水量，用电子天平称其鲜重后再用单面刀片切成约 1 mm 厚的薄片，置于 103 ℃的烘箱中烘干 48 h 后称重，以干重为基础计算种子含水量百分比；剩余种子用于活力测定。种子含水量和活力测定均以新采集的未进行脱水处理种子作为对照。

缓慢脱水(恒温干燥箱脱水)：取直径为 120 mm 的培养皿 27 个，分别取上述挑选好的种子手工剥皮后单层置于培养皿中，每一培养皿中 40 个种子，将培养皿加盖后置于 35 ℃的电子恒温干燥箱中干燥脱水；分别在脱水处理 1、2、4、8、12、24、48、72、96 h 后，各取出 3 个培养皿作为 3 次重复进行种子含水量和活力测定，种子含水量测定方法同上；剩余种子用于活力测定。种子含水量和活力测定均以新采集的未进行脱水处理种子作为对照。

1.3 种子低温贮藏

冷藏：取大小为 25 cm×15 cm 的透气尼龙网袋 15 个，将上述挑选好的种子手工剥皮后装入网袋内，每一网袋装入种子各 30 个，然后将装好种子的网袋置于 4 ℃冰箱内贮藏，分别于贮藏的 7、14、30、60、90 d 后，各取 3 袋作为 3 次重复进行种子活力测定。

冻藏：取与上述大小相同的透气尼龙网袋 18 个，将种子手工剥皮后每一网各装入 30 个，网袋置于-4 ℃冰箱内贮藏，分别于贮藏的 1、3、6、12、24、48 h 后，各取 3 袋作为 3 次重复进行种子活力测定。冷藏和冻藏处理种子均以新采集未经贮藏的种子作为对照。

1.4 种子萌发与相关参数计算

种子萌发于 14 h 光照/10 h 黑暗(光照强度约为 140 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)条件下，光照下温度为 25 ℃，黑暗为 15 ℃。取上述经脱水和贮藏处理的 30 个种子进行活力测定，将种子播于内径为 12 cm，装有约 1.5 cm 厚湿沙(用前以清水洗净后于 103 ℃烘箱中烘干 48 h)的培养皿中；播种时将种子平放于湿沙中，轻压种子使与湿沙充分接触以利于吸水。播种后将培养皿置于 SPX-330-C 智能人工气候箱(上海琅玕设备有限公司)中，每 24 h 观测记录种子萌发一次，以胚根伸出 5 mm 为萌发标准(Liu et al, 2005)，记录萌发的种子数，并测定萌发种子的胚根长度。萌发试验过程中适时浇水，保持沙子湿润，连续观察记录至连续 2 周没有种子萌发为止。

评价种子的活力参数包括种子萌发率(germination percentage, GP)、萌发速率(Germination rate, GR)、萌发指数(germination index, GI)和活力指数(vigor index, VI)，分别按照以下公式计算：

GP=萌发种子数/试验用种子总数×100%　　(1)

GR=∑(100G_i/nt_i)

式中：n 为每一处理使用的种子数，G_i 为 t_i (t_i = 0, 1, 2, 3…, ∞)天萌发的种子数；萌发速率越大，表示萌发越快(Rozema, 1975)。 (2)

GI=∑G_t /D_t

式中，G_t 为时间 t 天的萌发种子数，D_t 为萌发试验天数。 (3)

VI=萌发率×[幼苗根的长度(cm)+幼苗茎长度(cm)] (Boscagli & Sette, 2001) (本研究中只计算胚根长度)。 (4)

1.5 数据统计分析

将所有试验数据进行平方根转换后，用 Pearson 相关分析法分析种子含水量与萌发率间的相关性；用单因素方差(One-way ANOVA)分析不同脱水阶段与对照种间子含水量和萌发参数差异以及不同贮藏时期及其与对照种子间萌发参数的差异。所有数据的统计分析均在 SPSS13.0 中进行。

2 结果与分析

2.1 种子脱水过程中含水量与活力变化

由图 1 可以看出，辽东栎种子在成熟散落时(未脱水处理)具有较高的含水量(96.0%)，快速脱水 1 h 后含水量即显著降低至 89.7%，而在缓慢脱水的前 2 个阶段(脱水 1 h 和 2 h)含水量降低相对缓慢，至脱水处理 4 h 后种子含水量显著降低(为 88.9%)；2 种脱水方法的脱水速率均在脱水 4 h 至 8 h 间略有放缓，此后随着脱水时间的延长种子含水量又快速降低，至脱水处理的最后阶段(72 h 至 96 h)，含水量降幅均较小。

由图 2 可以看出，无论是快速还是缓慢脱水，随着种子含水量的减少，种子活力(萌发率)呈降低的趋势；Pearson 相关分析结果显示，种子活力与均与含水量呈显著正相关关系(Pearson 相关系数分别为 0.77 和 0.88，P<0.01)；在 2 种方法脱水的早期阶段，种子活力都表现出一定的波动，但两种方法脱水至种子含水量基本一致(快速脱水 8 h 和缓慢脱水 12 h 后，含水量分别为 84.1%和 83.5%)时，快速脱水种子萌发率(77.8%)显著高于缓慢脱水种子(58.9%) (P<0.05)，两者的萌发速率和萌发指数均差异显著(P<0.05)；脱水 96 h 后，含水量分别为 66.0%和 69.8%时，种子全部失去活力。

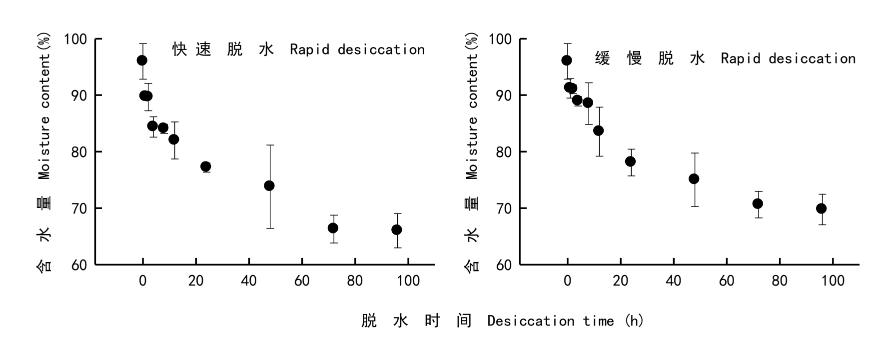


图 1 不同方式脱水对辽东栎种子含水量的影响

Fig. 1 Effects of different regimes of desiccation on the moisture content of *Quercus wutaishanica* seeds

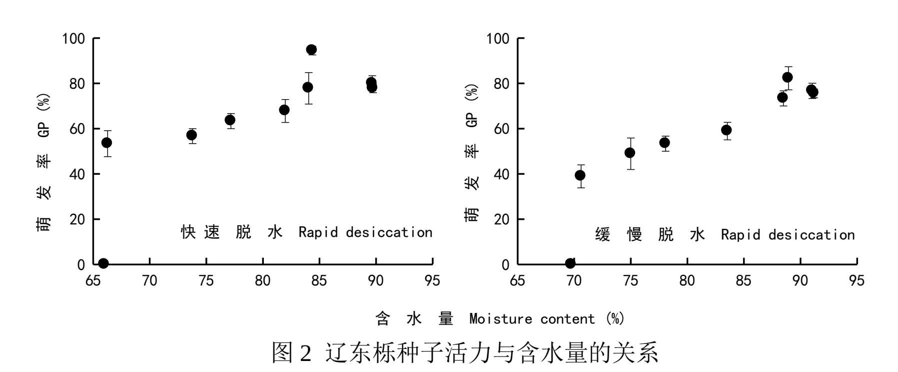


图 2 辽东栎种子活力与含水量的关系

Fig. 2 The relationship of seed viabilities of *Quercus wutaishanica* with their moisture contents

2.2 脱水对种子萌发的影响

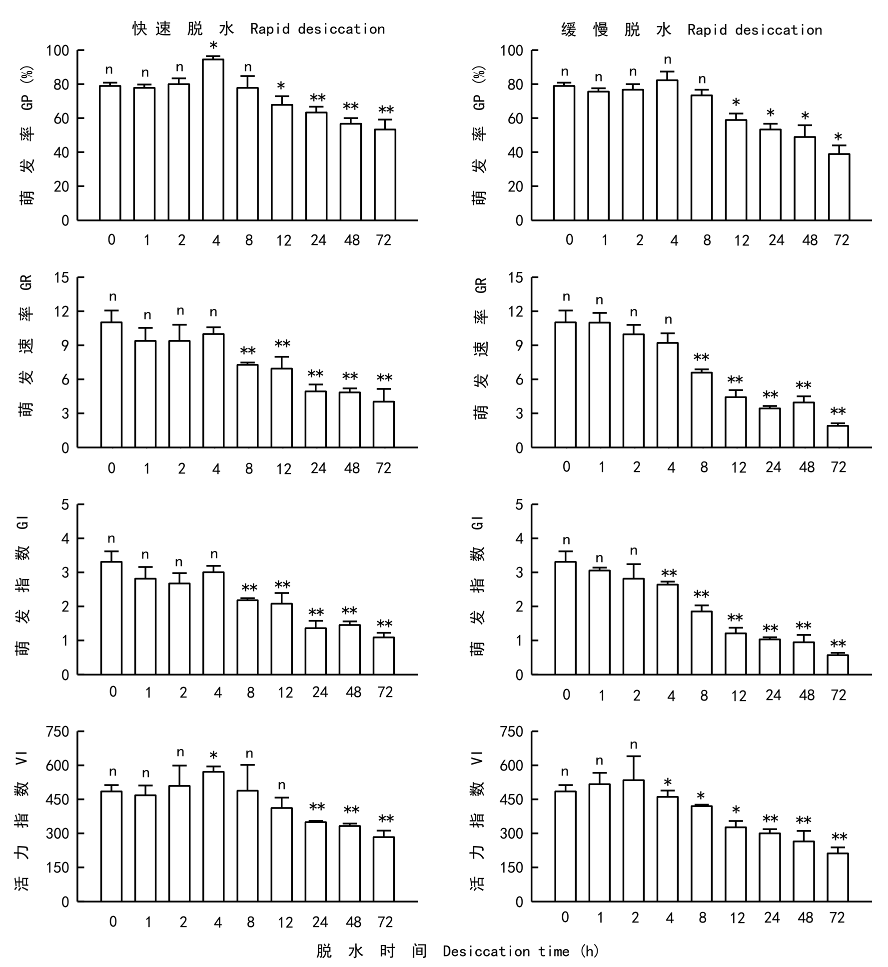
由图 3 可以看出，未经脱水处理的辽东栎种子萌发率为 78.9%，不论是快速脱水还是缓慢脱水，在脱水前期阶段种子萌发率均呈波动性增大趋势，至脱水 4 h 达最大值(快速脱水和缓慢脱水分别为 94.4%和 82.2%)，其中快速脱水的种子显著高于对照；随着脱水时间的延长，萌发率持续降低， 12 h 后，快速和缓慢脱水均显著低于对照(P<0.05)，72 h 后，萌发率分别降为 53.3%和 38.9%，脱水 96 h 后，萌发率均降至 0。

脱水延缓了种子萌发进程，不论是快速脱水还是缓慢脱水，萌发速率均随脱水时间的延长呈降低趋势，其中在脱水 8 h 后的各脱水阶段均显著低于对照(P<0.05)，尤其缓慢脱水条件下降幅更大，脱水 72 h 后，快速和缓慢脱水种子的萌发速率分别为 4.03 和 1.90。值得注意的是，种子快速脱水 4 h 后萌发速率略有增大，但与对照间差异不显著。

未脱水处理种子的萌发指数最大为 3.31，随着脱水时间的延长呈减小趋势。快速脱水 4 h 后略有增大，脱水 8 h 后的各脱水阶段均显著小于对照(P<0.05)；而在缓慢脱水过程中，萌发指数则随脱水时间的延长持续减小，脱水 4 h 后的各脱水阶段均显著小于对照(P<0.05)；快速脱水和缓慢脱水 72 h 后的最小值分别为 1.09 和 0.57。

快速脱水过程中，活力指数先呈波动性增大趋势，脱水 4 h 后的最大值(571.03)显著大于对照(P<0.05)，此后随着脱水时间的延长持续减小，脱水 72 h 后最小(283.38)，其中脱水

24 h 后的各脱水阶段与对照间差异显著(P<0.05)。缓慢脱水过程中，活力指数在脱水 4 h 前的 2 个阶段逐渐增大，但与对照间无显著差异；4 h 后各脱水阶段均显著小于对照(P<0.05)，72 h 后降低至 211.59。



注：“n”表示与对照种子间无显著差异，“*”和“**”分别表示与对照种子间在 P=0.05 和 P=0.01 水平上差异显著。

Note: “n” indicates no significant difference with control (non-desiccated) seeds; “*” and “**” indicate significant difference with control seeds at P=0.05 and P=0.01 respectively.

图 3 不同方式脱水对辽东栎种子萌发的影响

Fig. 3 Effects of different regimes of desiccation on the seed germination of *Quercus wutaishanica*

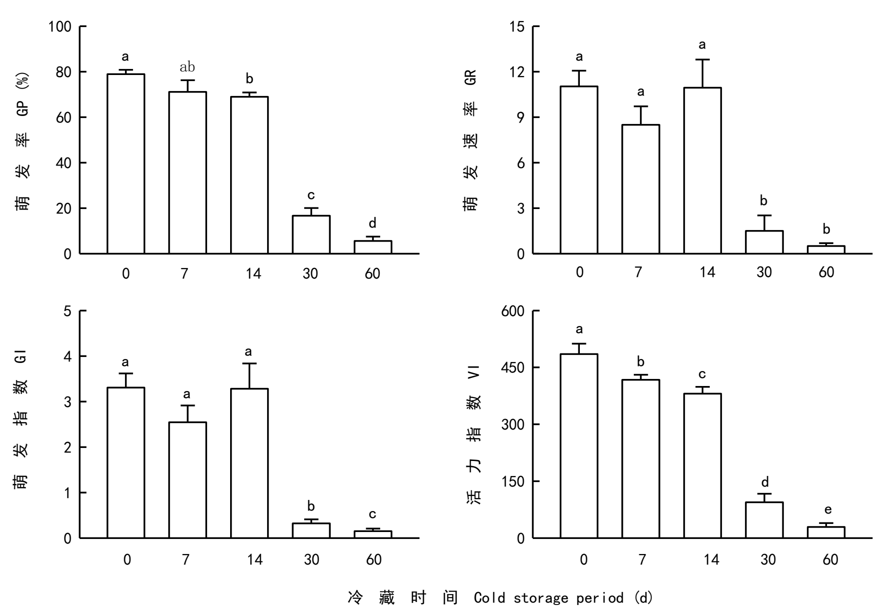
2.3 低温贮藏对种子萌发的影响

2.3.1 冷藏

冷藏 7 d 的种子萌发率降低至 71.1%，但与对照差异不显著，14 d 后萌发率显著降低(68.9%)，30 d 后急剧下降，60 d 萌发率仅有 5.6%，90 d 后为 0。种子萌发速率在冷藏 7 d 后从对照的 11.02 降至 8.49，但 14 d 后又增大至 10.94，30 d 和 60 d 后分别大幅降至 1.50 和 0.50，且均显著低于对照和冷藏 7 d 和 14 d 种子(P<0.05)。

萌发指数在冷藏 7 d 和 14 d 后略均不同程度减小(分别为 2.55 和 3.28)，但与对照差异不显著，在冷藏 30 d 和 60 d 后分别快速降低至 0.32 和 0.15，两者均显著低于对照和其他冷藏

时期种子(P<0.05)。活力指数随着冷藏时间的延长逐渐减小，在冷藏 7、14、30、60 d 后从对照的 485.17 分别减小为 417.38、380.59、94.18、28.98，且不同冷藏时期及其与对照间均差异显著(P<0.05)。



注：不同小写字母表示不同贮藏时期间差异显著。下同。

Note: Different small letters indicate significant difference among different storage periods. The same below.

图 4 冷藏对辽东栎种子萌发的影响

Fig. 4 Effect of cold storage on the germination of *Quercus wutaishanica* seeds

2.3.2 冻藏

辽东栎种子在冻藏 1 h 后萌发率即显著降低(72.2%)，此后随着冻藏时间的延长逐渐降低，24 h 后萌发率仅有 46.7%，48 h 后全部丧失活力。萌发速率在冻藏 1 h 后略有增大(12.27)，但与对照间无显著差异；随着冻藏时间的延长，萌发速率持续显著降低，各脱水阶段均显著低于脱水 1 h 种子(P<0.05)，但除 24 h 种子(4.69)外的其他脱水阶段均与对照间差异不显著。

萌发指数在冻藏 1 h 后从对照种子的 3.31 上升至 3.68，但 3 h 后即显著减小(P<0.05)，随着时间的继续延长持续减小，24 h 后的最小值(1.41)显著低于对照和其他所有冻藏时期种子(P<0.05)。活力指数随着冻藏时间的延长逐渐减小，3 h 后各贮藏时期均显著低于对照种子(P<0.05)，24 h 后达到最小值，为 253.90，显著低于对照和除冻藏 3 h 外其他所有冻藏时期种子(P<0.05)。

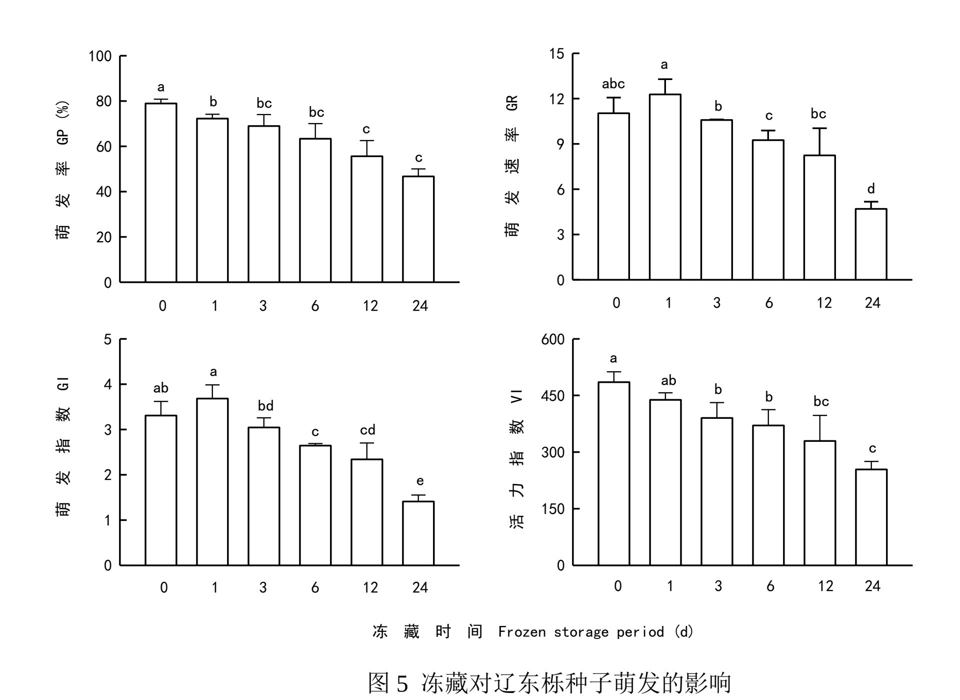


图 5 冻藏对辽东栎种子萌发的影响

Fig. 5 Effect of frozen storage on the germination of *Quercus wutaishanica* seeds

3 讨论

六盘山区的辽东栎种子一般在9月中下旬成熟脱落，这一时期该区正值雨季后期，种子成熟散落于湿润的森林地表后可立即萌发，该种子属于轻度顽拗性种子(闫兴富等，2011)，如遭遇干旱胁迫可能因脱水而失去活力。栎属植物种子的脱水敏感性可能是普遍存在的(Dickie & Pritchard, 2002; 辛霞等，2007; Xia et al, 2012)，研究发现，新成熟散落的辽东栎种子具有较高含水量和萌发率，在快速和缓慢脱水条件下，萌发率、萌发速率、萌发指数和活力指数均随着脱水时间的延长和种子含水量的降低呈减小趋势，这些结果证实了辽东栎种子不能耐受脱水的典型顽拗性特征(邵玉涛等，2006; Xia et al, 2015)，种子未经历成熟前的脱水阶段，散落时具有较高的含水量和代谢活性，因而对脱水反应敏感(Ntuli et al, 2014)，即表现出顽拗性的本质(Roberts, 1973; 何惠英和宋松泉，2003)。顽拗性种子在成熟散落之前即已启动萌发过程，是萌发中的“幼苗”，快速萌发有利于种子尽快吸收利用土壤水分，因为成熟散落期和萌发期之间的间隔期越长，种子遭遇干旱脱水的风险越大。因此，顽拗性种子在成熟散落后大部分快速萌发，从而表现出较高的萌发率。辽东栎种子的脱水敏感性和快速萌发特点也可能是对其分布区生境长期适应的结果，种子在湿润的雨季末散落可立即萌发，但此后要面临冬春季节的低温和干旱，种子快速萌发后既可通过主根获取土壤水分而缓解接下来的脱水伤害(Berjak & Pammenter, 2013)，又可避免动物对种子的捕食和病原体感染(Jayasuriya et al, 2012)，因为栎属植物种子的萌发过程可将子叶中的大部分营养物质快速转

移至主根贮藏起来，这种特殊的萌发方式可确保“幼苗”即使在子叶被动物捕食的情况下，也可在翌年依赖主根贮藏的营养物质保障自身的存活与生长(闫兴富等，2012)。

顽拗性种子的脱水耐性不仅取决于其顽拗性程度(Xia et al, 2012)，而且与脱水速率密切相关，在一定含水量范围内，种子脱水速率越快，耐受脱水能力越强(Walters et al, 2001)，即快速脱水可将顽拗性种子或胚(胚轴)脱水至更低含水量而保持较高活力(Wesley-Smith et al, 2001)，不同脱水速率下种子脱水耐性的差异可能与快速脱水使种子暴露于中间含水量状态的伤害时间较短有关(Waters et al, 2001; Berjak et al, 2004; 邵玉涛等，2006)，快速脱水引起的水分在种子中分布不均也可能提高种子的脱水耐性(Tompsett & Pritchard, 1998)。当然，也有种子活力与脱水方法无关(Pritchard et al, 1995)甚至完全相反的研究报道，例如，木奶果(*Baccaurea ramilfora*)种子慢速脱水时的耐性比快速脱水更高(路信等，2010)。本研究中，尽管辽东栎种子活力与含水量呈显著正相关关系，但快速脱水8 h和缓慢脱水12 h后，含水量基本一致时，前者萌发率显著高于后者，且两者的萌发速率和萌发指数均差异显著。这一结果表明，水分在种子内保持的时间越长，脱水对种子发生劣变的影响可能越大(Waters et al, 2001)，类似的研究报道还有很多(Wesley-Smith et al, 2001; 邵玉涛等，2006)。有研究认为，快速脱水对种子造成的危害主要是机械或物理伤害(Liang et al, 2002)，因为快速脱水的种子在中等含水量下经历的水基氧化积累导致的伤害时间相对较短(Pammenter et al, 2000)，而缓慢脱水可能主要是代谢改变和损伤而引起的代谢伤害(Walters et al, 2001)，具体机制仍有待于进一步的深入研究。

大量研究结果显示，轻度脱水可促进顽拗性种子萌发，从而提高萌发率(Konstantinidou et al, 2008; 路信等，2010; 闫兴富等，2011)，这一现象与种子成熟散落时可能存在的后熟过程有关，在这一后熟过程中，轻度脱水可促进种子的快速成熟，诱导与发育相关的合成事件(例如贮藏物合成)停止，并启动与种子萌发和幼苗生长相关的合成过程(宋松泉和傅家瑞，1998)，从而打开启动种子萌发过程的“开关”。本研究中，不论快速脱水还是缓慢脱水，辽东栎种子活力均在脱水前期阶段呈波动性增大趋势，表现为萌发率、萌发速率、萌发指数和活力指数增大，至脱水 4 h 萌发率达最大值，即轻度脱水促进种子的萌发。这些结果均可从上述研究者的结论中得以证实，而且也可能是种子轻度脱水促进幼苗建立的适应性反应，因为幼苗一旦生根，即可获得种子阶段不能得到的土壤水分供应(Berjak & Pammenter, 2013)。因此，在以辽东栎种子为材料的直播造林实践中，林业生产部门通常在种子采收后将种子适当通风干燥以促进种子快速萌发。

顽拗性种子的另一个特定是不能耐受低温，在湿润条件下贮藏时易受低温伤害而丧失活力(Li & Pritchard, 2009; Walters et al, 2013)，即在适合正常性种子贮藏的低温、低含水量和密闭条件下，顽拗性种子的贮藏寿命通常只有数周或数月(Berjak & Pammenter, 2013)，甚至会加快种子的死亡(文彬，2008)。闫兴富和曹敏(2006)认为，要在不影响种子活力的前提下，在低至足以抑制或减慢萌发而又高至足以阻止低温伤害的温度下贮藏顽拗性种子，因为较高含水量和代谢活性使其对通常的低温引起的伤害反应敏感(Li & Pritchard, 2009; Walters et al, 2013)，甚至一些高度顽拗性种子在任何贮藏条件下都会快速萌发，以至于必须贮藏已经萌发的种子。因此，在顽拗性种子的贮藏实践中，只能通过适度降低贮藏温度以延迟种子萌发(闫兴富等，2011)。研究发现，尽管辽东栎种子的部分萌发参数在低温贮藏初期略有波动，但在冷藏和冻藏条件下，种子活力均随贮藏时间延长呈减小趋势，萌发率、萌发速率、萌发指数和活力指数在冷藏 30 d 后均大幅减小，冷藏 60 d 后仅有 5.6%的种子保持活力，冻藏 48 h 后种子活力全部丧失。这些结果表明，尽管轻度顽拗性的辽东栎种子能够耐受一定程度的低温，并能够在野外自然条件下安全越冬(闫兴富等，2011)，但其仅能耐受实验室内相对低温下的短期贮藏，且其在发育和萌发阶段之间没有明显界限，即缺乏正常性种子拥有的代谢关闭机制，导致在低温贮藏期间自动萌发现象非常普遍(Devine et al, 2010; 周立彪等，2013)。另一方面，因为顽拗性种子贮藏要求在水分饱和和保持种子活力的条件下进行的，随着贮藏时间的延长和自动萌发的逐渐加剧，种子对低温和脱水反应可能更加敏感(闫兴富等，2011; 周立彪等，2013)。其他一些栎属植物的顽拗性种子似乎对低温有较好的耐性，如栓皮栎种子的活力在 5 ℃下贮藏 100 d 后仍无显著降低(辛霞等，2007)，冬青栎(*Quercus ilex*)种子在 3 ℃下贮藏 11 个月仍可保持较高活力(Pasquini et al, 2011)，红栎(*Q. rubra*)种子可以贮藏 3-5 年，但在贮藏期间种子质量逐渐降低(Bonner & Vozzo, 1987)。

此外，种皮对温带地区顽拗性种子顺利度过冬季低温可能具有一定保护作用，本研究的冷藏温度(4 ℃)与上述相关研究中栓皮栎和冬青栎种子的贮藏温度较为接近，但辽东栎种子冷藏至 60 d 后仅有 5.6%保持活力，表明 4 ℃低温对辽东栎种子的伤害更为严重，可能因为丧失种皮保护的种子对低温反应更为敏感。事实上，辽东栎种子在越冬期间除大量被动物取食、萌发或因微生物侵染而霉烂外，翌年春季仍有部分种子能够在凋落物保护下存活下来(个人观察结果)。周立彪等(2013)在室外条件下将辽东栎种子露天埋藏(30 和 50 cm)12 周后，萌发率仍高达 90%以上，但自动萌发现象严重，表明在有种皮保护的情况下，尽管在贮藏过程中部分种子自动萌发，但不会导致活力丧失。据 Bonner & Vozzo (1987)报道，栎属种子的胚根通常在 2~5 ℃下可快速突破种皮(自动萌发)，这与本研究的辽东栎种子在低温贮藏期间

的自动萌发现象类似，这一结果可能也源于其对分布区生境的长期适应，尤其是后期散落的种子在该温度下快速萌发可将子叶中的大部分营养物质转移并贮藏于主根中(闫兴富等，2012)，即使在这一期间子叶遭受动物取食也不会对幼苗存活与生长造成严重影响(闫兴富等，2011)。因此，在自然生境下，辽东栎种子可依赖种皮的屏障作用增强低温耐性，并通过自动萌发降低种子被动物捕食和脱水死亡的风险，当地林业生产人员的“适度深埋的秋播优于春播”的直播造林经验也间接印证了这一结果。

参考文献

BERJAK P, PAMMENTER NW, 2013. Corrigendum: implications of the lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds[J]. Front Plant Sci, 4: 478.

BERJAK P, PAMMENTER NW, BORNMAN CH, 2004. Biotechnological aspects of non-orthodox seeds: an African perspective [J]. S Afr J Bot,70: 102–108.

BONNER FT, VOZZO JA, 1987. Seed biology and technology of *Quercus*. General Technology Report[R]. New Orleans, LA: US Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station.

BOSCAGLI A, SETTE B, 2001. Seed germination enhancement in *Satureja montana* L. ssp. *Montana*[J]. Seed Sci Technol, 29: 47–355.

DEVINE WD, HARRINGTON CA, KRAFT JM, 2010. Acorn storage alternatives tested on Oregon white oak[J]. Native Plants J, 11: 65-76.

DICKIE JB, PRITCHARD HW, 2002. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds[M] // BLACK M, PRITCHARD HW. Desiccation and Survival in Plants: Drying without Dying. New York: CABI Publishing: 239–259.

HE HY, SONG SQ, 2003. Desiccation sensitivity of *Calophyllum polyanthum* seeds and factors affecting their germination[J]. Acta Bot Yunnan, 25(6): 687–692. [何惠英，宋松泉, 2003. 滇南红厚壳种子的脱水敏感性及其影响萌发的因子[J]. 云南植物研究, 5(6): 687–692.]

JAYASURIYA KMGG, WIJETUNGA ASTB, BASKIN JM, et al, 2012. Physiological epicotyl dormancy and recalcitrant storage behaviour in seeds of two tropical Fabaceae (subfamily Caesalpinioideae) species[J]. AoB Plants, pls044.

KONSTANTINIDOU E, TAKOS I, MEROU T, 2008. Desiccation and storage behavior of bay laurel (*Laurus nobilis* L.) seeds[J]. Eur J For Res, 127: 25–31.

LI DZ, PRITCHARD HW, 2009. The science and economics of ex situ plant conservation[J]. Trends Plant Sci, 4: 614–621.

LI L, SUN XT, ZHANG GH, et al, 2014. Effect of drying rates on the desiccation sensitivity and antioxidant enzyme activities of recalcitrant *Panax notoginseng* seeds[J]. Seed, 33(12): 1–5. [李磊，孙雪婷，张广辉，等, 2014. 脱水速率对顽拗性三七种子脱水敏感性和抗氧化酶活性的影响[J]. 种子, 33(12): 1–5.]

LIANG YH, SUN, WQ, 2002. Rate of dehydration and cumulative desiccation stress interacted to modulate desiccation tolerance of recalcitrant Cocoa and Ginkgo embryonic tissues[J]. Plant Physiol, 128: 1323–1331.

LIU Y, QIU YP, ZHANG L, et al, 2005. Dormancy breaking and storage behavior of *Garcinia cowa* Roxb. (Guttiferae) seeds: implications for ecological function and germplasm conservation[J]. J Integr Plant Biol, 47: 38–49.

LU X, LUO YL, WANG YF, et al, 2010. Effect of different drying rates on the desiccation tolerance and antioxidant enzyme activities of *Baccaurea ramilfora* (Euphorbiaceae) seeds[J]. Acta Bot Yunnan, 32(4):

361–366. [路信，罗银玲，王一帆，等，2010. 不同脱水速率对木奶果种子脱水敏感性及抗氧化酶活性的影响[J]. 云南植物研究, 32(4): 361–366.]

NTULI TM, BERJAK P, PAMMENTER NW, 2014. Tissue diversity in respiratory metabolism and free radical processes in embryonic axes of the white mangrove (*Avicennia marina*) during drying and wet storage[J]. Afr J Biotechnol, 13: S57–S66.

PAMMENTER NW, BERJAK P, 2000. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology[J]. Seed Sci Res, 10, 301–306.

PAMMENTER NW, BERJAK P, WALTERS C, 2000. The effect of drying rate on recalcitrant seeds: 'lethal water contents', causes of damage, and quantification of recalcitrance[M]// BLACK M, BRADFORD KJ, VÁZQUEZ-RAMOS J. Seed Biology: Advances and Applications. New York: CABI Publishing: 215–221.

PASQUINI S, BRAIDOT E, PETRUSSA E, et al, 2011. Effect of different storage conditions in recalcitrant seeds of holm oak (*Quercus ilex* L.) during germination[J]. Seed Sci Technol, 39: 165–177.

PRITCHARD HW, HAYE AJ, WRIGHT WJ, et al, 1995. A comparative study of seed viability in *Inga* species: desiccation tolerance in relation to the physical characteristics and chemical composition of the embryo[J]. Seed Sci Technol, 23: 85–100.

ROBERTS EH, 1973. Predicting the storage life of seeds[J]. Seed Sci Technol, 1: 499–514.

ROZEMA J. 1975. The influence of aslinity, inundation and temperature on germination of some halophytes and non-halophytes[J]. Oecologia Planta, 10: 341–353.

SHAO YT, YIN SH, LAN QY, et al, 2006. Developmental changes in relation to desiccation tolerance of *Archontophoenix alexandrae* (Palmae) seeds[J]. Acta Bot Yunnan, 28(5): 515–522. [邵玉涛，殷寿华，兰芹英，等, 2006. 假槟榔种子脱水耐性的发育变化[J]. 云南植物研究, 28(5): 515–522.]

SONG SQ, FU JR, 1998. Role of maturation drying in seed development and germination[J]. Chin Bull Bot, 15(2): 23–32. [宋松泉，傅家瑞, 1998. 成熟脱水对种子发育和萌发的作用[J]. 植物学报, 15(2): 23–32.]

TOMPSETT PB, PRITCHARD HW, 1998. The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L. seed[J]. Ann Bot, 82: 249-261.

WALTERS C, BERJAK P, PAMMENTER N, et al, 2013. Preservation of recalcitrant seeds[J]. Science, 339: 915–916.

WALTERS C, PAMMENTER NW, BERJAK P, et al, 2001. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds[J]. Seed Sci Res, 11: 135–148.

WEN B, 2008. On the compound quantitative characteristic trait of seed recalcitrance[J]. Acta Bot Yunnan, 30(1): 76–88. [文彬, 2008. 试论种子顽拗性的复合数量性状特征[J]. 云南植物研究, 30(1): 76–88.]

WESLEY-SMITH J, PAMMENTER NW, BERJAK P, et al, 2001. The effects of two drying rates on the desiccation tolerance of embryonic axes of recalcitrant Jackfruit[J]. Ann Bot, 88: 653–664.

XIN X, LIN J, JING XM, 2007. Dehydration and chilling sensitivity of several Fagaceae seeds[J]. Seed, 26(3): 10–13. [辛霞，林坚，景新明, 2007. 壳斗科几种种子脱水和低温敏感性初探[J]. 种子, 26(3): 10–13.]

XIA K, DAWS MI, HAY FR, et al, 2012. A comparative study of desiccation responses of seeds of Asian Evergreen Oaks, *Quercus*, subgenus *Cyclobalanopsis*, and *Quercus*, subgenus *Quercus*[J]. S Afri J Bot, 78: 47–54.

XIA K, DAWS MI, ZHOU ZK, et al, 2015. Habitat-linked temperature requirements for fruit germination in *Quercus* species: A comparative study of *Quercus* subgenus *Cyclobalanopsis* (Asian evergreen oaks) and *Quercus* subgenus *Quercus*[J]. S Afri J Bot, 100: 108–113.

YAN XF, CAO M, 2006. Influence of light and temperature on the germination of *Shorea wantianshuea* (Dipterocarpaceae) seeds[J]. Chin Bull Bot, 23(6): 642–650. [闫兴富，曹敏, 2006. 光照和温度对望天树种子萌发的影响[J]. 植物学通报, 23(6): 642–650.]

YAN XF, DU Q, SHI C, 2011. Seedling regeneration of *Quercus liaotungensis* in Liupan Mountains, China[J]. Chin J Plant Ecol, 35(9): 914–925. [闫兴富，杜茜，石淳，等, 2011. 六盘山区辽东栎的实生苗更新及其影响因子[J]. 植物生态学报, 35(9): 914–925.]

YAN XF, ZHOU LB, ZHANG KW, 2012. Cotyledon loss and its effects on survival and growth of *Quercus wutaishanica* seedlings under different densities[J]. Chin J Plant Ecol, 36(8): 831–840. [闫兴富，周立彪，张靠稳，等, 2012. 不同密度下辽东栎幼苗子叶丢失及其对幼苗存活和生长的影响[J]. 植物生态学报, 36(8): 831–840.]

ZHOU LB, YAN XF, ZHANG Q, et al, 2013. Effects of soil burial depth and duration on the seed germination of *Quercus wutaishanica*[J]. Chin J Ecol, 32(7): 1800–1806. [周立彪，闫兴富，张嫱，等, 2013. 土壤埋藏深度和埋藏时间对辽东栎种子萌发的影响[J]. 生态学杂志, 32(7): 1800–1806.]